

## Increasing doses of a microbial preparation in the health and productive performance of post-weaning pigs

### Dosis crecientes de un preparado microbiano en el comportamiento productivo y de salud de los cerdos en posdestete

L. Flores<sup>1</sup>, A. Elías<sup>2</sup>, Yolaine Medina<sup>2</sup>, F. Proaño<sup>1</sup>, G. Granizo<sup>1</sup>, Sandra López<sup>1</sup> and W. Caicedo<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Río Bamba, Ecuador

<sup>2</sup>Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal Mayabeque, Cuba

<sup>3</sup>Universidad Estatal Amazónica, km 2 ½ Vía a Napo, Pastaza, Ecuador

Email: [luisgerardofloresmancheno@yahoo.es](mailto:luisgerardofloresmancheno@yahoo.es)

In order to evaluate growing doses of a microbial preparation (milk whey 33 %, molasses 20 %, urea 1 %, mineral salt 1 %, and water 45 %) on the productive performance, and the presence of diarrheas in post-weaning pigs, a completely randomized design was applied, with five treatments and four repetitions: T1 concentrate, T2, T3, T4 (concentrate plus 5 mL kg LW<sup>-1</sup>, 10 mL kg LW<sup>-1</sup>, and 15 mL kg LW<sup>-1</sup> of the microbial preparation, respectively) and T5 (concentrate plus commercial probiotic). A total of 200 pigs from the crossing of Landrace x Large White with Belgium White x Pietrain were used, with 28 d old and 6.99 kg LW ± 0.18 kg. The highest final weight and the best total and daily weight gain ( $P < 0.01$ ) were obtained in pigs fed with concentrates, and 15 mL kg LW<sup>-1</sup> of the microbial preparation was added. Values of 25.78 kg, 18.78 kg and 447.25 g were obtained, respectively. The most efficient values, according to the conversions of dry matter, protein and energy ( $P < 0.01$ ), were obtained in the treatment with 15 mL kg LW<sup>-1</sup> of microbial preparation, with 1.68 kg DM.kg<sup>-1</sup>, 351.16 g.kg LW<sup>-1</sup>, and 24.54 MJ.kg LW<sup>-1</sup>, respectively. The lowest presence of diarrheas ( $P < 0.01$ ) was obtained in animals fed with the concentrate plus 15 mL kg LW<sup>-1</sup> of the microbial preparation, and an incidence of 12 diarrheas. The use of the microbial preparation (15 mL kg LW<sup>-1</sup>) improved the nutritional value of the concentrates, the best parameters were obtained and the appearance of diarrheas was reduced.

Key words: *probiotic, nutritional quality, pigs, digestibility*

#### Introduction

The need of controlling digestive and respiratory pathologies, in the intensive systems of pig production, has led to the wide use of antibiotics as food additives (Cajarville *et al.* 2011). However, the utilization of low doses of antimicrobial products for feeding animals destined to human consumption, in order to improve growth and prevent diseases, is related to the global crisis of health regarding the resistance to antimicrobials.

At international level, several jurisdictions have restricted the use of these products (Maron *et al.* 2013). The use of probiotics, as live microbial additives, is an alternative that provides benefits to animal health because it improves the intestinal microbial balance. The application of probiotics on pig feeding has allowed to improve the zootechnical indicators of food conversion, final liveweight gain and immune response (Jurado *et al.* 2013).

Para evaluar dosis crecientes de un preparado microbiano (suero de leche 33 %, melaza 20 %, urea 1 %, sal mineral 1 %, agua 45 %) y un probiótico comercial ML 100 E (1 kg/t) en el comportamiento productivo y presencia de diarreas en cerdos durante la etapa postdestete, se aplicó un diseño completamente aleatorizado, con cinco tratamientos y cuatro repeticiones: T1 concentrado, T2, T3, T4 (concentrado más 5 mL.kg PV<sup>-1</sup>, 10 mL.kg PV<sup>-1</sup>, 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> del preparado microbiano, respectivamente) y T5 (concentrado más probiótico comercial). Se utilizaron 200 cerdos del cruce Landrace x Large White con Blanco Belga x Pietrain, de 28 d de edad, con 6.99 kg PV ± 0.18 kg. El mayor peso final y la mejor ganancia de peso total y diaria ( $P < 0.01$ ) se obtuvieron en los cerdos alimentados con concentrado, al que se agregó 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> del preparado microbiano. Se lograron valores de 25.78 kg, 18.78 kg y 447.25 g, respectivamente. Los valores más eficientes, en cuanto a la conversiones de materia seca, proteína y energía ( $P < 0.01$ ), se obtuvieron con el tratamiento al que se añadió el preparado microbiano (15 mL.kg PV<sup>-1</sup>), con cifras de 1.68 kg MS.kg<sup>-1</sup> y aumento de peso vivo de 351.16 g.kg PV<sup>-1</sup> y 24.54 MJ.kg PV<sup>-1</sup>, respectivamente. La menor presencia de diarreas ( $P < 0.01$ ) se registró en los animales alimentados con concentrado más 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> de preparado microbiano, con incidencia de 12 diarreas. La utilización del preparado microbiano (15 mL.kg PV<sup>-1</sup>) mejoró el valor nutricional de los concentrados. Se obtuvieron además, los mejores parámetros productivos y se redujo la ocurrencia de diarreas en cerdos posdestete.

Palabras clave: *probiótico, calidad nutricional, cerdos, digestibilidad.*

#### Introducción

La necesidad de controlar las patologías digestivas y respiratorias en los sistemas intensivos de producción de cerdos ha conllevado a la utilización masiva de antibióticos como aditivos alimenticios (Cajarville *et al.* 2011). Sin embargo, el empleo de productos antimicrobianos en dosis bajas en la alimentación de animales que se destinan al consumo humano, con el propósito de mejorar el crecimiento y la prevención de enfermedades, se asocia a la crisis de salud global relacionada con la resistencia a los antimicrobianos.

En el ámbito internacional, varias jurisdicciones han respondido al restringir el uso de estos productos (Maron *et al.* 2013). La utilización de probióticos, como aditivos microbianos vivos, es una alternativa que aporta beneficios a la salud del animal, por cuanto mejora el equilibrio microbiano intestinal. La aplicación de probióticos en la alimentación de cerdos ha permitido mejorar los indicadores

According to Gutiérrez *et al.* (2013), most of the authors coincide to define probiotics as food additives formed by living microorganisms that, consumed in proper amounts, may produce a beneficial effect on physiology and health of the host, improving the intestinal microbial balance.

Elías and Herrera (2008) reported on the obtaining and use of a product with probiotic activity, result of a simple biotechnological process, which is rich of lactobacilli, yeasts, organic acids of carbonated short chains, and low pH, able to control the development of *Escherichia coli*, to reduce the incidence of diarrheas and to increase the liveweight gain of animals.

In Ecuador, some microbial preparations with excellent probiotic activity have been used, which are based on whey, sugarcane juice and pig feces as bio-accelerant. These last improve the quality of bio-preparations because they are rich in organic acids, lactic acids and yeasts (Díaz 2011).

The objective of this research was to perform a chemical and microbiological characterization of the microbial preparation, compare the nutritional content of experimental diets, and evaluate the productive performance and diarrheas during the post-weaning stage of pigs.

### Materials and Methods

*Experiment location.* The experiment was developed in the labs of animal nutrition and biotechnology at the Unidad Académica Porcina in the Facultad de Ciencias Pecuarias (FCP) from the Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador (ESPOCH). The experiment was divided into three stages:

*First stage. Production and characterization of the microbial preparation.* This stage lasted 9d. The fresh whey, molasses, urea, mineral salt and water were mixed (table 1) in plastic tanks (220 L of volume), according to recommendations of Díaz *et al.* (2013).

The whey was taken from the industrial cheese factory from the FCP, ESPOCH. The mixture contained 85° Brix. Urea was commercially acquired and contained 46 % of nitrogen. The mineral salt was also commercially acquired and was composed by 9 % of calcium and 10 % of phosphorous. The water for human consumption was used after two hours of rest. The components of

zootécnicos de conversión alimentaria, ganancia de peso vivo final y respuesta inmune (Jurado *et al.* 2013).

Según Gutiérrez *et al.* (2013), la mayoría de los autores coinciden en definir los probióticos como aditivos alimentarios constituidos por microorganismos vivos que, al consumirse en cantidades adecuadas, producen efecto benéfico en la fisiología y la salud del hospedero, a partir del mejoramiento del equilibrio microbiano del intestino.

Elías y Herrera (2008) informaron acerca de la obtención y uso de un producto con actividad probiótica, obtenido por un proceso biotecnológico sencillo, rico en lactobacilos, levaduras, ácidos orgánicos de cadenas carbonadas cortas y bajo pH, capaz de controlar el desarrollo de *Escherichia coli*, reducir la incidencia de diarreas en los animales y aumentar la ganancia de peso vivo.

En Ecuador, se han utilizado preparados microbianos con excelente actividad probiótica, basados en suero de leche, guarapo y heces de cerdo como bioacelerantes. Estos, al ser productos ricos en ácidos orgánicos, ácido láctico y levaduras, mejoran la calidad de los biopreparados (Díaz 2011).

Los objetivos de esta investigación fueron caracterizar química y microbiológicamente el preparado microbiano, comparar el contenido de nutrientes de las dietas experimentales, y evaluar el comportamiento productivo y las diarreas durante la etapa posdestete porcina.

### Materiales y Métodos

*Localización del experimento.* El experimento se desarrolló en los laboratorios de biotecnología y nutrición animal, en la Unidad Académica Porcina de la Facultad de Ciencias Pecuarias (FCP) de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Ecuador (ESPOCH). El experimento se dividió en tres etapas.

*Primera etapa. Elaboración y caracterización del preparado microbiano.* Esta etapa duró 9 d. En tanques plásticos (capacidad de 220 L) se mezcló suero fresco de leche, melaza, urea, sal mineral y agua, según las recomendaciones de Díaz *et al.* (2013) (tabla 1).

El suero de leche se tomó de la quesería industrial de la FCP, ESPOCH. La melaza contenía 85 grados Brix. La urea se adquirió en forma comercial y contenía 46 % de nitrógeno. La sal mineral también se consiguió comercialmente y estuvo compuesta por 9 % de calcio y 10 % de fósforo. El agua fue la de consumo humano

Table 1. Ingredients of the microbial preparation

Ingredients	Inclusion, %
Fresh whey	33
Molasses	20
Urea	1
Mineral Salt	1
Water	45

Díaz (2011)

the mixture were homogenized and contained with a hermetic top at room temperature.

The mixture was homogenized and with a top for 96 h. Five samples (200 mL) were taken for characterizing the product, which consisted on determining the pH (WPA portable potentiometer), the content of organic acids according to the technique proposed by Erwin *et al.* (1961) and microorganism recount (lactic bacteria, fungi and yeasts) according to the procedure proposed by Merck (2005).

The descriptive statistics from Infostat (2012) was used to characterize the microbial preparation.

*Second stage. Comparison of the nutritional content of experimental diets.* This stage lasted 30 d. A concentrate was formulated and considered as base diet (table 2 and 3), and contained the same raw matters for the post-weaning stage due to the nutritional requirements of the animals, according to NRC (1998).

Table 2. Raw matters used for the concentrate

Ingredients	%
National corn	35.00
National powder	5.00
Wheat bran	9.81
Soybean meal	35.15
Fish meal	2.00
methionine DL	0.38
L-lysine L	0.38
Palm kernel	5.00
Molasses	2.00
Red oil	2.88
CaCO <sub>3</sub>	0.5
Dicalcium phosphate	1.1
NaCl	0.5
Pecutrin® <sup>1</sup>	0.30

<sup>1</sup>Commercial mixture of minerals and vitamins (Ecuacuímica 2000)

In order to estimate the nutritional influence that could result from the addition of the microbial preparation of Díaz *et al.* (2013) over the addition of a probiotic cited by Allen *et al.* (2013), a lab analysis was performed for five treatments: base concentrate, base concentrate + microbial preparation (5 mL kg LW<sup>-1</sup>), base concentrate + microbial preparation (10 mL kg LW<sup>-1</sup>), and base concentrate + microbial preparation (15 mL kg LW<sup>-1</sup>) and base concentrate + commercial probiotic (ML 100 E).

The commercial probiotic (More Yeast 100 E) is a combination of yeast culture with live cells of *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* and digestive enzymes (protease, lipase, amylase and cellulase).

All treatments underwent a proximal analysis, according to AOAC (2005). *In vitro* digestibility of crude protein was determined by the technique of pepsin and pancreatin (Dierick *et al.* 1985) and true protein was determined according to Bernstein (1983).

For comparing the nutritional content of the experimental diets, the means of each treatment were

y se mantuvo dos horas en reposo antes de utilizarla. Los componentes de la mezcla se homogenizaron y se mantuvieron con tapa hermética a temperatura ambiente.

La mezcla se homogenizó y se mantuvo con tapa durante 96 h. Se tomaron cinco muestras (200 mL) para la caracterización del producto, que consistió en determinar el pH (potenciómetro portátil marca WPA), contenido de ácidos orgánicos (de acuerdo con la técnica propuesta por Erwin *et al.* 1961) y recuento de microorganismos: bacterias lácticas, hongos y levaduras, según procedimiento propuesto por Merck (2005).

Para la caracterización del preparado microbiano, se utilizó la estadística descriptiva presente en Infostat (2012).

*Segunda etapa. Comparación del contenido de nutrientes de las dietas experimentales.* Tuvo una duración de 30 d. Se formuló un concentrado que se consideró como dieta base (tabla 2 y 3) y mantuvo las mismas materias primas para la etapa de posdestete, debido a los requerimientos nutricionales de los animales, según la NRC (1998).

Table 3. Nutritional contribution of the diet on dry basis (db)

Nutrient	Contribution
Crude protein %	20.9
Lysine %	1.20
Methionine %	0.62
Tryptophane %	0.22
Calcium %	0.72
Phosphorous %	0.72
Ether extract %	3.79
Fiber %	8.21
Metabolizable energy MJ/kg	13.67

Para estimar la influencia nutricional que podría provocar la adición del preparado microbiano de Díaz *et al.* (2013) ante la adición de un probiótico citado por Allen *et al.* (2013), se realizó análisis de laboratorio para cinco tratamientos: concentrado base, concentrado base + preparado microbiano (5 mL.kg PV<sup>-1</sup>), concentrado base + preparado microbiano (10 mL.kg PV<sup>-1</sup>), concentrado base + preparado microbiano (15 mL.kg PV<sup>-1</sup>) y concentrado + probiótico comercial (ML 100 E).

El probiótico comercial (More Yeast 100 E) es una combinación de cultivos de levadura con células vivas de *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* y enzimas digestivas (proteasas, lipasas, amilasas y celulasas).

Todos los tratamientos se sometieron a análisis proximal, según AOAC (2005). La digestibilidad *in vitro* de la proteína cruda se determinó mediante la técnica pepsina pancreatina (Dierick *et al.* 1985) y la proteína verdadera, según Bernstein (1983).

Para la comparación del contenido de nutrientes de las dietas experimentales, se utilizaron las medias de cada uno de los tratamientos, luego de analizar cinco muestras.

used after analyzing five samples.

*Third stage. Evaluation of productive indexes in fattening pigs.* The initial weight, final weight, total weight gain, daily weight gain, and the conversion of dry matter, protein and energy were evaluated, regarding the same treatments of second stage.

*Experimental procedure.* An amount of 200 castrated Landrace-Large White x Belgium White-Pietrain pigs, with 28d old and  $6.99 \pm 0.18$  kg, were used. Each experimental unit was composed by 10 pigs per collective pens of  $2 \times 2.25$  m, with a density of a pig per  $0.45 \text{ m}^2$ . The animals received five experimental treatments. The food was provided every 24h during the morning, at 8:00 a.m. water was provided *ad libitum* in nipple troughs.

*Statistical analysis.* For the productive performance, an analysis of covariance was carried out in the variables final weight, total weight gain, daily weight gain and conversion of dry matter, protein and energy. The initial weight was considered as the concomitant variable, which did not influence on the mentioned variables so the analysis of variance, according to a completely randomized design, was carried out (InfoStat 2012), with five treatments and four repetitions per treatments. The test of Duncan (1955) was applied ( $P < 0.05$ ) in the necessary cases.

The theoretical assumptions of the analysis of variance for the amount of diarrheas were analyzed. The test of Shapiro and Wilk (1965) was used for normality of errors. For homogeneity of variance, the test of Levene (1960) fulfilled these assumptions, so it was not necessary its transformation ( $\sqrt{x}$ ) through the statistical software StatSoft, Inc. (2003).

## Results and Discussion

The microbial preparation showed 3.8 of pH after 96 h of fermentation. The content of lactic acid was  $0.122 \text{ mg mL}^{-1}$ ; the propionic acid was  $0.00367 \text{ mg mL}^{-1}$ , and the butyric acid was  $0.00037 \text{ mg mL}^{-1}$ . The acidity considered as lactic acid was 3.26 %, 21.23 % of dry matter, 1.383 % of total nitrogen, 0.953 % of protein content, 0.184 % of ammonia content and 8.62 % of crude protein.

There was a total absence of salmonellas and coliforms. The content of mold and yeasts was  $384 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$ , 8.90 °Brix and that of acid lactic bacteria was  $43.12 \times 10^3 \text{ CFU mL}^{-1}$ .

After comparing the microbial preparation with Vitafert (Elías and Herrera 2008), there were some similarities regarding their microbiological and chemical composition, because the content of yeast of Vitafert ranged between  $10^7$  and  $10^8 \text{ CFU mL}^{-1}$ . Lactobacilli were between  $10^9$  and  $10^{10} \text{ CFU mL}^{-1}$ , lactic acid ranged between 40.5 and 54.04  $\text{mg mL}^{-1}$ , and the acetic acid was between 13.51 and 25.82  $\text{mg mL}^{-1}$  (Roján 2009).

Table 4 shows the results of the proximal analysis, true protein and digestibility of crude protein from the

*Tercera etapa. Evaluación de índices productivos en cerdos de ceba.* Se evaluó el peso inicial, peso final, ganancia de peso total, ganancia de peso diaria, conversión de materia seca, conversión de proteína y conversión de energía sobre la concepción de los mismos tratamientos de la segunda etapa.

*Procedimiento experimental.* Se utilizaron 200 cerdos castrados, cruce Landrace-Large White x Belga-Pietrain, de 28 d de edad, con  $6.99 \pm 0.18$  kg. Cada unidad experimental se compuso de 10 cerdos alojados en corrales colectivos de  $2 \times 2.25$  m, con densidad de un cerdo por  $0.45 \text{ m}^2$ . Los animales recibieron cinco tratamientos experimentales. El alimento se ofreció cada 24 h durante la mañana, a las 8:00 a.m. El agua se suministró *ad libitum* en bebederos tipo tetina.

*Análisis estadístico.* Para el comportamiento productivo, se realizó análisis de covariable en las variables peso final, ganancia de peso total, ganancia de peso diaria, conversión de materia seca, conversión de proteína y conversión de energía. Se tomó como variable concomitante el peso inicial, que no influyó en las variables antes mencionadas, por lo que se realizó análisis de varianza según diseño completamente aleatorizado (InfoStat 2012), con cinco tratamientos y cuatro repeticiones por tratamiento. Se aplicó la dócima de Duncan (1955) para  $P < 0.05$  en los casos necesarios.

Se analizaron los supuestos teóricos del análisis de varianza para la variable número de diarreas. Se utilizó la dócima de Shapiro y Wilk (1965) para la normalidad de los errores. Para la homogeneidad de varianza, la dócima de Levene (1960) que cumplió con dichos supuestos, por lo que no fue necesario realizar su transformación ( $\sqrt{x}$ ) mediante el software estadístico StatSoft, Inc. (2003).

## Resultados y Discusión

El preparado microbiano presentó pH de 3.8, luego de 96 h de fermentación. El contenido de ácido láctico fue de  $0.122 \text{ mg mL}^{-1}$ ; el de ácido propionico,  $0.00367 \text{ mg mL}^{-1}$  y el de ácido butírico,  $0.00037 \text{ mg mL}^{-1}$ . La acidez titulable como ácido láctico fue de 3.26 %; la materia seca, 21.23 %; el nitrógeno total, 1.383 %; el proteico, 0.953 %; el amoniacal, 0.184 % y la proteína bruta, 8.62 %.

Hubo ausencia total de salmonellas y coliformes totales. El contenido de mohos y levaduras fue de  $384 \times 10^3 \text{ UFC mL}^{-1}$ , grados Brix 8.9, y el de bacterias ácido lácticas,  $43.12 \times 10^3 \text{ UFC mL}^{-1}$ .

Al comparar el preparado microbiano con el Vitafert (Elías y Herrera 2008), hubo algunas similitudes en su composición microbiológica y química, ya que en este último el contenido de levaduras osciló entre  $10^7$ - $10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$ . Los lactobacilos estuvieron entre  $10^9$ - $10^{10} \text{ UFC mL}^{-1}$ ; el ácido láctico, 40.5-54.04  $\text{mg mL}^{-1}$  y el acético, 13.51-25.82  $\text{mg mL}^{-1}$  (Roján 2009).

En la tabla 4 se presentan los resultados del análisis proximal, proteína verdadera y digestibilidad de la proteína bruta de las cinco dietas en estudio.

Table 4. Comparison of nutritional value of experimental diets, as a result of different levels of inclusion of the microbial concentrate, regarding the treatment

Indicators	Treatments					SE(±) sign.
	Control	5 mL.kg LW. <sup>1</sup> microbial preparation	10 mL.kg LW. <sup>1</sup> microbial preparation	15 mL.kg LW. <sup>1</sup> microbial preparation	Commercial probiotic	
Humidity %	10.58 <sup>a</sup>	15.52 <sup>c</sup>	19.86 <sup>d</sup>	25.20 <sup>e</sup>	11.98 <sup>b</sup>	0.1870 P<0.0001
Dry Matter %	89.42 <sup>e</sup>	84.48 <sup>c</sup>	80.01 <sup>b</sup>	74.80 <sup>a</sup>	88.02 <sup>d</sup>	0.2157 P<0.0001
Ashes %	9.34 <sup>ab</sup>	9.95 <sup>cd</sup>	10.14 <sup>d</sup>	9.44 <sup>bc</sup>	8.83 <sup>a</sup>	0.1824 P=0.0004
Crude protein %	23.49 <sup>a</sup>	23.64 <sup>ab</sup>	24.63 <sup>bc</sup>	28.93 <sup>d</sup>	24.90 <sup>c</sup>	0.3468 P<0.0001
Fat %	5.13 <sup>a</sup>	5.19 <sup>a</sup>	5.36 <sup>a</sup>	6.44 <sup>b</sup>	6.52 <sup>b</sup>	0.2358 P=0.0003
Crude fiber %	7.9 <sup>bc</sup>	8.3 <sup>c</sup>	7.91 <sup>bc</sup>	7.41 <sup>b</sup>	7.31 <sup>a</sup>	0.1645 P<0.0001
NFE %	54.15 <sup>c</sup>	52.93 <sup>bc</sup>	51.95 <sup>b</sup>	47.77 <sup>a</sup>	53.44 <sup>c</sup>	0.4259 P<0.0001
True protein %	22.43 <sup>b</sup>	22.68 <sup>b</sup>	23.37 <sup>c</sup>	25.78 <sup>d</sup>	23.09 <sup>a</sup>	0.2066 P<0.0001
Crude protein digestibility %	74.67 <sup>a</sup>	80.96 <sup>c</sup>	81.30 <sup>cd</sup>	81.62 <sup>d</sup>	80.25 <sup>b</sup>	0.2113 P<0.0001

<sup>abcd</sup> Values with different letters in the same line differ at P < 0.05 (Duncan 1955)

five diets under study.

It is evident that there was a direct relationship between the addition of the microbial preparation and humidity. Regarding the dry matter, while the inclusion level of the microbial preparation increased in the concentrate, the dry matter decreased. The control showed the highest content, followed by the commercial probiotic without the microbial preparation, possibly because of the hydrolytic activity of acid lactic bacteria and yeasts, with the production of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O, as other researchers have reported regarding different food (Aksu *et al.* 2004, Nkosi 2009 and Weinberg *et al.* 2009).

The highest values of ash content were obtained with the inclusion of 5 and 10 mL.kg LW<sup>-1</sup>, followed by the inclusion of 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> and the control. The commercial probiotic without the microbial additive had the lowest content. It was demonstrated that as the amount of microbial preparation in the concentrate increased, the content of dry matter decreased and the ash concentration increased.

It is possible that the decrease of dry matter with the increase of the amount of microbial preparation may be caused by the low content of dry matter in this preparation, because it only contained 8.90 °Brix. It is also possible the appearance of a solid state fermentation (SSF) during the time between the addition of the preparation, taking of the sample and the physical and chemical analysis because the NFE decreased with the increase of the amount of microbial preparation, with the lowest values in the addition of 15 mL.kg LW<sup>-1</sup>.

The decrease of NFE could not be caused by the accelerate growth of bacteria and yeasts added with the microbial preparation, which may have developed during the process of SSF. A similar effect was observed by Elías *et al.* (1990) through the SSF of sugar cane for obtaining a food for animals called Saccharina. Likewise, Elías and Herrera (2008) confirmed a similar

Es evidente que hubo relación directa entre la adición del preparado microbiano y la humedad. Con respecto a la MS, en la medida que aumentó el nivel de inclusión del preparado microbiano en el concentrado, la MS disminuyó. El control presentó mayor contenido, seguido del probiótico comercial sin el preparado microbiano, debido posiblemente a la actividad hidrolítica de bacterias ácido lácticas y levaduras presentes, con producción de CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O, como ha sido informado por otros investigadores en distintos alimentos (Aksu *et al.* 2004, Nkosi 2009 y Weinberg *et al.* 2009).

Los mayores valores en el contenido de ceniza se obtuvieron con la inclusión de 5 y 10 mL.kg PV<sup>-1</sup>, seguidos por la inclusión de 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> y el control. El probiótico comercial sin el aditivo microbiano fue el de menor tenor. Se demostró que con el incremento de la adición del preparado microbiano en el concentrado disminuyó el contenido en materia seca y aumentó la concentración en cenizas.

Es posible que la disminución de la materia seca con el incremento de la adición del preparado microbiano se debiera a que el contenido de materia seca de este último fue bastante bajo, pues solo contenía 8.9 grados Brix. También es posible que se produjera una fermentación en estado sólido (FES) durante el tiempo que transcurrió entre la adición del preparado, toma de muestra y realización del análisis físico-químico, ya que el ELN disminuyó en la medida que se incrementó la adición del preparado microbiano con los valores más bajos en la adición de 15 mL.kg PV<sup>-1</sup>.

Por supuesto, la disminución en ELN se pudo deber al crecimiento acelerado de las bacterias y levaduras adicionadas con el preparado microbiano que pudieron desarrollarse durante el proceso de la FES. Un efecto similar observó Elías *et al.* (1990) mediante la FES de la caña de azúcar para obtener un alimento para animales, denominado Saccharina. Asimismo, un efecto parecido

effect in the production of other food.

The reduction of NFE was directly related to the increase of crude protein (table 4), regarding the increase of the amount of microbial preparation in the concentrates. Likewise, there was an increase of true protein. Something similar happened to a preparation of lactic acid bacteria in mixed diets of alfalfa or maize stubble plus a commercial concentrate after promoting the synthesis of microbial protein (Franco *et al.* 2009). In this regard, Elías *et al.* (1990) demonstrated that the efficiency for CP synthesis in the conversion of soluble carbohydrates within the NFE was 0.61 units.

Table 4 shows that control, the concentrate with the addition of 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> and that with the commercial probiotic had the highest fat content. The difference in the fat content among concentrates is not considered as significant because, according to NRC (1998), there are no differences in the performance of post-weaning pigs, fed with concentrates containing between 2 and 32 % of fat. These concentrates had the lowest content of crude fiber, with a little difference among them, because the crude fiber content of concentrates is considered low (6.31-8.3) and it is under the 10-15 % of the diet. The intake and the performance of animals are not affected by these differences, according to NRC (1998).

Regarding the variation in the digestibility of crude protein obtained, table 4 shows its increase compared to the control, between 6.29 and 6.95 percentile units. There were almost no differences among the inclusion levels of the microbial preparations but it was slightly superior to the increase obtained with the commercial probiotic, which increased 5.58 percentile units regarding the control.

It is known that lactic acid bacteria have a great proteolytic activity (Kunji *et al.* 1996). Regarding reports of Díaz *et al.* (2013), this microbial preparation also has this characteristic and a high content of lactic acid bacteria that justified the increase of the digestibility of the obtained CP. Something similar occurred with the addition of the commercial probiotic due to the action of live bacteria and yeasts and the enzymatic complex (protease, lipase, amylase and cellulase).

Table 5 shows the results of final weight obtained during the experiment. There were significant differences ( $P < 0.05$ ) among treatments. The treatment with the addition of 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> of the microbial preparation had a difference over 5.66 kg of LW compared to the control. Regarding the inclusion of 5 mL.kg LW<sup>-1</sup>, the difference was 4.56 kg. With the addition of 10 mL.kg LW<sup>-1</sup>, the difference was 1.84 kg and there were 2.11 kg with the commercial probiotic.

As for total weight gain, there were significant differences ( $P < 0.05$ ) among treatments. The treatment with 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> provided figures superior to 5.63, 4.54, 1.85 and 2.11 kg, regarding the control

Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 49, Number 3, 2015  
constataron Elías y Herrera (2008) al elaborar otros alimentos.

La reducción en ELN estuvo directamente relacionada con el aumento en proteína bruta (tabla 4), según se incrementó la adición del preparado microbiano en los concentrados. Asimismo, se encontró aumento en la proteína verdadera. Algo similar ocurrió con un preparado de bacterias ácido lácticas en dietas mixtas de alfalfa o rastrojo de maíz más concentrado comercial, al promover la síntesis de proteína microbiana (Franco *et al.* 2009). Al respecto, Elías *et al.* (1990) demostraron que la eficiencia para la síntesis de PB en la conversión de carbohidratos solubles contenidos en el ELN era de 0.61 unidades.

En la tabla 4 se puede observar que los concentrados de mayor contenido en grasa fueron el control, con la adición de 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> y el que contenía probiótico comercial. Se considera que la diferencia en el contenido de grasa entre los concentrados es insignificante, ya que según el NRC (1998) no se han encontrado diferencias en el comportamiento de cerdos en posdestete, alimentados con concentrados que contienen entre 2 y 32 % de grasa. A su vez, estos concentrados fueron de menor contenido en fibra bruta, con muy poca diferencia entre ellos, debido a que el contenido en fibra bruta de los concentrados se considera bajo (6.31-8.3) y está por debajo de 10 a 15 % de la dieta. Las diferencias no afectan el consumo ni probablemente el comportamiento de los animales, según el NRC (1998).

En relación con la variación en la digestibilidad de la proteína bruta obtenida, en la tabla 4 se muestra que aumentó con respecto al control, entre 6.29 y 6.95 percentiles. Si bien casi no hubo diferencias entre los niveles de inclusión del preparado microbiano, fue ligeramente superior al incremento obtenido con el probiótico comercial, cuyo aumento con respecto al control fue de 5.58 percentiles.

Se sabe que las bacterias ácido lácticas poseen gran actividad proteolítica (Kunji *et al.* 1996). Según informes de Díaz *et al.* (2013), este preparado microbiano tiene también esta propiedad que, unida a su alto tenor de bacterias ácido lácticas, justificó el aumento en la digestibilidad de la PB obtenida. Algo similar pudo ocurrir con la adición del probiótico comercial, debido a la acción de las bacterias y levaduras vivas y al complejo enzimático proteasas, lipasas, amilasas y celulasas.

En la tabla 5 se muestran los resultados de peso final obtenidos durante el experimento. Hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos. El tratamiento con la adición de 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> de preparado microbiano produjo diferencia por encima de 5.66 kg de PV en comparación con el control. Con respecto a la inclusión de 5 mL.kg PV<sup>-1</sup>, fue de 4.56 kg; con la adición de 10 mL.kg PV<sup>-1</sup>, de 1.84 kg y con el probiótico comercial, de 2.11.

En cuanto a la ganancia de peso total, hubo diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos. El tratamiento con 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> produjo valores

Table 5. Productive performance of pigs under the influence of growing doses of a microbial preparation during the post-weaning stage

Indicators	Treatments					SE(±) Sign.
	Control	5 mL.kg LW <sup>-1</sup> microbial preparation	10 mL.kg LW <sup>-1</sup> microbial preparation	15 mL.kg LW <sup>-1</sup> microbial preparation	Commercial probiotic	
Initial weight kg	6.97	6.98	7.00	7.00	7.00	0.02 P=0.7706
Final weight kg	20.12 <sup>a</sup>	21.22 <sup>b</sup>	23.94 <sup>c</sup>	25.78 <sup>d</sup>	23.67 <sup>c</sup>	0.16 P<0.0001
Total weight gain kg	13.15 <sup>a</sup>	14.24 <sup>b</sup>	16.93 <sup>c</sup>	18.78 <sup>d</sup>	16.67 <sup>c</sup>	0.17 P<0.0001
Daily weight gain, g	313 <sup>a</sup>	339 <sup>b</sup>	403 <sup>c</sup>	447.25 <sup>d</sup>	396.75 <sup>c</sup>	0.0041 P<0.0001
DM conversion, kg.kg LW <sup>-1</sup>	2.27 <sup>c</sup>	2.13 <sup>d</sup>	1.84 <sup>c</sup>	1.68 <sup>a</sup>	1.76 <sup>b</sup>	0.02 P<0.0001
Dry matter intake, kg. day	0.693	0.7	0.724	0.733	0.682	
Protein intake, g. day	162.78	165.48	178.32	180.53	197.3	
Energy intake, MJ/day	9.47	10.37	11.61	10.95	10.02	
CP conversion, g kg LW <sup>-1</sup>	474.07 <sup>c</sup>	445.71 <sup>d</sup>	384.51 <sup>c</sup>	351.16 <sup>a</sup>	367.92 <sup>b</sup>	5.01 P<0.0001
Energy conversion, MJ kg LW <sup>-1</sup>	32.13 <sup>d</sup>	30.61 <sup>c</sup>	26.27 <sup>b</sup>	24.58 <sup>a</sup>	2600 <sup>b</sup>	0.34 P<0.0001

<sup>abcde</sup>Values with different letters in the same line differ at P < 0.05 (Duncan 1955)

and the treatments with the inclusion of 5mL.kg LW<sup>-1</sup>, 10 mL.kg LW<sup>-1</sup> and the commercial probiotic, respectively.

There were significant differences (P < 0.05) among treatments in daily weight gain. The treatment with 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> provided figures superior to 134.25, 108.25, 44.25 and 50.5 g, regarding the control, 5mL.kg LW<sup>-1</sup>, 10 mL.kg LW<sup>-1</sup> and the commercial probiotic, respectively.

There was no statistical analysis for the variables dry matter intake, protein intake and energy intake per day because there was no variability within treatments, only the means of each treatment were reported. Dry matter intake increased with the increase of the amount of the product added to the concentrate. The intake of protein and energy also increased when the animals consumed higher quantities of dry matter. The amount of protein and energy was superior in the treatments where higher amounts of the microbial preparation were added.

Table 5 demonstrates that the conversion of dry matter, crude protein and digestible energy was higher with the increase of the amount of microbial preparation. The best conversions were achieved with the inclusion of 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> and with the commercial probiotic.

All the obtained productive indicators were more efficient than those recommended by NRC (1998) in this category and final liveweight. Likewise, these indicators coincide with the Cuban technical productive indicators referred by López *et al.* (2008). Weight gains obtained

superiores a 5.63, 4.54, 1.85 y 2.11 kg, con respecto al control y a los tratamientos con inclusión de 5mL.kg PV<sup>-1</sup>, 10 mL.kg PV<sup>-1</sup> y al probiótico comercial, respectivamente.

Para la ganancia diaria de peso hubo diferencias significativas (P < 0.05) entre tratamientos. En el tratamiento con 15 mL.kg PV<sup>-1</sup>, se constataron valores por encima de 134.25, 108.25, 44.25 y 50.5 g con respecto a los tratamientos control, 5 mL.kg PV<sup>-1</sup>, 10mL.kg PV<sup>-1</sup> y al probiótico comercial, respectivamente.

En las variables consumo de materia seca, consumo de proteína y consumo de energía por día, no se realizó análisis estadístico porque no hubo variabilidad intratratamientos, solo se informaron las medias de cada tratamiento. El consumo de materia seca se incrementó en la medida que se adicionó mayor cantidad del producto al concentrado. El de proteína y energía también se acrecentó, según los animales consumieron mayor cantidad de materia seca. La cantidad de proteína y energía fue superior en los tratamientos en los que se añadió más cantidad del preparado microbiano.

En la tabla 5 se evidencia que en la medida que se incrementó la adición del preparado microbiano, la conversión de materia seca, proteína bruta y energía digestible fue superior. Las mejores conversiones se lograron con la inclusión de 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> y con el probiótico comercial.

Todos los indicadores productivos obtenidos fueron más eficientes que los recomendados por el NRC (1998) para esta categoría y peso vivo final. A su vez, coinciden con los indicadores productivos técnicos

with higher inclusion levels of the microbial preparations agree with that recommended by the Grupo Porcino (GRUPOR 2010) in systems of intensive rearing with the use of concentrate food.

Cortés and Gómez (2011) determined that the use of probiotics in diets for pigs during their first life stages have a beneficial effect on the improvement of nutrient absorption in the small intestine. This is demonstrated on the improvement of zootechnical parameters and on the decrease of diarrheas. Giang *et al.* (2012) improved the productive indicators in post-weaning pigs with the supplementation of diets with a complex of lactic acid bacteria, alone or combined with *B. subtilis* and *S. boulardii*.

Table 6 shows the number of diarrheas during the 43 d of study. There were significant differences

cubanos referidos por López *et al.* (2008). Las ganancias de peso obtenidas con los mayores niveles de inclusión del preparado microbiano concuerdan con lo recomendado por el Grupo Porcino (GRUPOR 2010) en sistemas de crianza intensiva con la utilización de alimento concentrado.

Cortés y Gómez (2011) determinaron que la utilización de probióticos en la dieta de cerdos durante las primeras etapas de vida tiene efecto benéfico en el mejoramiento de la absorción de nutrientes en el intestino delgado. Esto se refleja en la mejoría de los parámetros zootécnicos y en la disminución de la ocurrencia de diarreas. Giang *et al.* (2012), al suplementar las dietas con un complejo de bacterias del ácido láctico, solo o en combinación con *B. subtilis* y *S. boulardii*, mejoraron los indicadores productivos en cerdos posdestete.

En la tabla 6 se muestra el número de diarreas en los

Table 6. Performance of diarrheas per treatment

Indicators	Treatments					SE(±) Sign.
	Control	5 mL.kg LW. <sup>1</sup> microbial preparation	10 mL.kg LW. <sup>1</sup> microbial preparation	15 mL.kg LW. <sup>1</sup> microbial preparation	Commercial probiotic	
Number of diarrheas	84.00 <sup>d</sup>	53.00 <sup>c</sup>	26.00 <sup>b</sup>	12.00 <sup>a</sup>	15.00 <sup>a</sup>	1.8166 P < 0.0001

<sup>abcd</sup>Different letters indicate significant differences P < 0.05 (Duncan 1955)

(P < 0.05) among treatments, with the lowest value for the treatment with 15 mL.kg LW<sup>-1</sup>.

These values coincide with those reported by Jurado *et al.* (2013), who researched the *in vivo* evaluation of *Lactobacillus plantarum*, as an alternative for the use of antibiotics in piglets. Thirabunyanon and Thongwittaya (2012) reported that a probiotic strain of *B. subtilis* (NC11) has a protective action against the infection by *S. enteritidis*, and it is capable of excluding this last from its place in the gastrointestinal tract where the flow of pathogenic food starts. Heo *et al.* (2012) stated that probiotics and prebiotics seem to be able of improving yield and enteric health of piglets.

It is possible that the results of this study are directly related to the beneficial changes produced in the intestinal microbial composition, favoring the implantation of acid lactic bacteria, which, by their metabolic activity, control the proliferation of undesirable enterobacteria, and increase the efficiency of utilization of nutrients that are not digested by the enzymatic system of animals, in addition to increase the activity of the immune system, as the review by Metges and Loh (2003) demonstrates.

The results obtained during the experimental period agree with other researches on the use of bacteria cultures. Rodríguez (2009) obtained the best results in growing pigs, using a biological preparation of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus termophilus*. Pérez (2008) considered

43 d de estudio. Se presentaron diferencias significativas (P < 0.05) entre los tratamientos, encontrándose el número más bajo para el tratamiento con 15 mL.kg PV<sup>-1</sup>.

Estos valores coinciden con lo informado por Jurado *et al.* (2013), quienes investigaron la evaluación *in vivo* de *Lactobacillus plantarum*, como alternativa al uso de antibióticos en lechones. Thirabunyanon y Thongwittaya (2012) informaron que una cepa probiótica de *B. subtilis* (NC11) tiene actividad protectora contra la infección por *S. enteritidis*, y es capaz de excluirlo de su sitio original en el tracto gastrointestinal, donde se inicia la ruta de los alimentos de contaminación patógena. Heo *et al.* (2012) manifestaron que los probióticos y prebióticos parecen ser capaces de mejorar el rendimiento y la salud entérica de los lechones.

Es posible que los resultados obtenidos en este estudio se relacionen directamente con las alteraciones beneficiosas que se producen en la composición microbiana intestinal, a favor de la implantación de bacterias ácido lácticas, que mediante su actividad metabólica logran controlar la proliferación de enterobacterias indeseables y aumentar la eficiencia en la utilización de nutrientes no digeribles por parte del sistema enzimático de los animales, además de elevar la actividad del sistema inmunológico, como lo demuestra la revisión realizada por Metges y Loh (2003).

Los resultados obtenidos en el período experimental concuerdan con otras investigaciones realizadas por otros autores con la utilización de cultivos bacterianos. Rodríguez (2009) obtuvo mejores resultados en cerdos en crecimiento, al utilizar un preparado biológico de *Lactobacillus*



that including a mixed strain of yogurt (*Lactobacillus bulgaricus*/*Streptococcus thermophilus*) for piglets under conditions of commercial production improved the productive indicators of pigs at 70 d old. Roján (2009) found a better response in the evaluation of the effect of a biologically active product (Vitafert) on health and productive indicators in pre-fattening pigs.

It can be concluded that the microbial preparation maintains a low pH because it does not contain short chain organic acids, lactic acid bacteria and yeasts. This guarantees its quality and stability, improves the nutritional value of concentrates, increases digestibility of crude protein, favors the productive parameters and reduces the indexes of diarrheas in pigs during the post-weaning stage. From the results of this research, new studies are recommended with the use of 15 mL.kg LW<sup>-1</sup> of the microbial preparation. Its comparison with commercial antibiotics and probiotics is also suggested.

*acidophilus* y *Streptococcus thermophilus*. Pérez (2008) consideró que la inclusión de una cepa mixta de yogurt (*Lactobacillus bulgaricus*/*Streptococcus thermophilus*) para cerditos en condiciones de producción porcina comercial mejoró los indicadores productivos de los cerdos a los 70 d de edad. Roján (2009) encontró mejor respuesta, al evaluar el efecto de un producto biológicamente activo (Vitafert) en indicadores productivos y de salud en preceba porcina.

Se concluye que el preparado microbiano, al tener ácidos orgánicos de cadena corta, bacterias ácido lácticas y levaduras, mantiene el pH bajo. Esto garantiza su calidad y estabilidad, mejora el valor nutricional de los concentrados, aumenta la digestibilidad de la proteína bruta, favorece los indicadores productivos y reduce los índices de diarreas en cerdos durante la etapa posdestete.

A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se recomiendan nuevos estudios con la utilización de 15 mL.kg PV<sup>-1</sup> de preparado microbiano. Se sugiere además, compararlo con respecto a los antibióticos y probióticos comerciales.

### References

- AOAC 2005. Official Methods of Analysis. 18 th Ed. Ass. Off. Anal. Chem. Gaithersburg. USA
- Aksu, T., Baytok, E. & Bolat, D. 2004. Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research* 55:249
- Allen, H., Levine, U., Looft, T., Bandrick, M. & Casey, T. 2013. Treatment, promotion, commotion: antibiotic alternatives in food-producing animals. *Trends Microbiology*. 21:114
- Bernstein, J. 1983. Análisis de alimentos. Ed. Wintra, A.L. & Wintra, K.B. Tomo I. Ed. Pueblo y Educación. 84 p.
- Cajaveville, C., Brambillasca, S. & Zumino, P. 2011. *Revista Porcicultura Iberoamericana* 1:2
- Cortéz, L. & Gómez, F. 2011. Eficiencia de microorganismos (EM) en el mejoramiento funcional del sistema digestivo de cerdos en fase prevalente. *Spec. Demos.* 7:31
- Díaz, B. 2011. Aprovechamiento biotecnológico de residuos agroindustriales para la alimentación de animales zootécnicos. *Rev. Colombiana de Ciencias Pecuarias* 4:145
- Díaz, B., Elías, A. & Valiño, E. C. 2013. Nutritional and economical efficiency of three biosilages from agroindustrial wastes in beef cattle. *Cuban J. Agric. Sci.* 47:143
- Dierick, M.A., Decuypere, J. & Henderichx, H. 1985. Protein digestion in pig measured *in vivo*. *Proc. 3rd International Seminar on Digestive Physiology in the Pig*. Eds. A. Just, H. Jorgensen and J. Fernández. p. 229
- Duncan, DB. 1955. Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1
- Ecuquímica 2000. Pecutrin® saborizado. Minerales + vitaminas A, D3, E. Suplemento mineral más vitaminas ADE. Registro 1AB-630-Agrocalidad. Available: [http://www.ecuquimica.com/pdf\\_ganaderia/Pecutrin.pdf](http://www.ecuquimica.com/pdf_ganaderia/Pecutrin.pdf). Consulted: February, 2015
- Elías, A. & Herrera, F. 2008. Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de microorganismos beneficiosos activados (MEBA). Vitafer. First version. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba
- Elías, A., Lezcano, O., Lezcano, P., Cordero, J. & Quintana, L. 1990. A review on the development of a protein sugar cane enrichment technology through solid state fermentation (Saccharina). *Cuban J. Agric. Sci.* 24:1
- Erwin, E., Marco, G. & Emery, E. 1961. Volatile fatty acid analysis of blood and rumen fluid by gas chromatography. *J. Dairy Sci.* 44:1768
- Franco, J., Galina, N., Delgadillo, P. & Pérez-Gil, F. 2009. Efecto de la adición de un suplemento líquido portador de bacterias ácido lácticas a dietas de alfalfa-concentrado y rastrojo de maíz-concentrado en ovinos. *Asociación Latinoamericana de Producción Animal* 17:83
- Giang, H., Viet, T., Ogle, B. & Lindberg, J. 2012. effects of supplementation of probiotics on the performance, nutrient digestibility and faecal microflora in growing-finishing pigs. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 24:655
- Grupor. 2010. Boletín anual de indicadores productivos en la producción porcina en Cuba. MINAG. 32 p.
- Gutiérrez, L., Montoya, O & Vélez, J. 2013. Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. *Rev. Producción + Limpia* 8:135
- Heo, J., Opapeju, F., Plusks, J., Kim, J., Hampson, D. & Nyachoti, C. 2012. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhea without using in-feed antimicrobial compounds. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 97:207
- Infostat. 2012. Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C. Grupo Infostat. FCA. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina. Versión 1.0 para Windows
- Jurado, H., Ramírez, C. & Martínez, J. 2013. Evaluación *in vivo* de *Lactobacillus plantarum* como alternativa al uso de antibióticos en lechones. *MVZ Córdoba* 18:3649

- Kunji, E.R.S., Mieran, J., Hagting, A., Poulamn, B. & Konings, W.N. 1996. The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 70: 221
- Levene, H. 1960. Robust tests for the equality of variance. *Contributions to probability and statistics*. Stanford University Press. p. 278
- López, O., Pérez, J. García, A. Dieguez, F., Sosa, R. & Crespo, A. 2008. Manual de procedimientos técnicos para la crianza porcina. Ministerio de Agricultura. Ediciones CIMA. La Habana. 136 p.
- Maron, D., Smith, T. & Nachman, K. 2013. Restrictions on antimicrobial use in food animal production: an international regulatory and economic survey. *Globalization and Health* 9:48
- Merk. 2005. Catálogo de productos, técnicas y servicios en medios de cultivo para microbiología. Alemania. p. 45
- Metges, C. & Loh, G. 2003. Intestinal microbial amino acid synthesis and its importance for the amino acid homeostasis of the monogastric host. *Progressing research on energy and protein metabolism*. EAAP Publication N°. 109. Eds. Sonffrand and C.C Metges. p. 579
- Nkosi, B.D., Meeske, R., Palic, D., Langa, T., Leeuro, K.J. & Gtoenewald, J.B. 2009. Effects of ensiling whole crop maize with bacterial inoculants on the fermentation, aerobic stability, and growth performance of lambs. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 154:193
- NRC 1998. Nutrient requirement of domestic animal. Nutrient requirement of swine. *Nat. Acad. Sci. Washington. D.C.* p.85
- Peréz, Y. 2008. Evaluación del efecto probiótico de una cepa mixta de yogurt (*Lactobacillus bulgaricus*/*Streptococcus thermophilus*) para cerditos en condiciones de producción porcina comercial. *Revista Computarizada de Producción Porcina* 15:4
- Rodríguez, J. 2009. Evaluación del suministro de un preparado biológico de *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus thermophilus* en cerdos en crecimiento. *Revista Computarizada de Producción Porcina* 16:54
- Roján, L. 2009. Efecto de un producto biológicamente activo (Vitafer) en indicadores productivos y de salud en preceba porcina. Master Thesis. Instituto de Ciencia Animal. Cuba. 32 p.
- Shapiro, S. & Wilk, B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples), *Biometrika* 52:602
- Statsoft, Inc. 2003. *Statistics (data analysis software system)*. Version 7
- Thirabunyanon, M. & Thonwittaya, M. 2012. Protection activity of a novel probiotic strain of *Bacillus subtilis* against *Salmonella enteritidis* infection. *Research Vet. Sci.* 97:74
- Weinberg, Z., Shatz, O., Chen, Y., Yosef, E., Nikbahat, M., Ben Ghedalia, D. & Miron, J. 2009. Effect of lactic acid bacteria inoculants on *in vitro* digestibility of wheat and corn silages. *J. Dairy Sci.* 90: 4754

**Received: January 6, 2015**